

公開特許公報

昭52—139778

⑫Int. Cl²
C 07 G 7/02識別記号
1 1 2⑬日本分類
36(2) C 05庁内整理番号
7048—49

⑭公開 昭和52年(1977)11月21日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 3 頁)

⑮固定化酵素膜

⑯特 願 昭51—55072

⑰出 願 昭51(1976)5月14日

⑱發明者 高原秀明

京都市右京区花園中御門町3番
地 株式会社立石ライフサイエ
ンス研究所内

⑲發明者 滝沢耕一

京都市右京区花園中御門町3番
地 株式会社立石ライフサイエ
ンス研究所内

⑳出願人 立石電機株式会社

京都市右京区花園土堂町10番地

㉑代理 人 弁理士 和田成則

明細書

1. 発明の名称

固定化酵素膜

2. 特許請求の範囲

高分子膜を粗面化し、この粗面化された部分にアクリル酸アミド系単量体を酵素とともに含浸重合させたことを特徴とする固定化酵素膜。

3. 説明の詳細を説明

この発明は固定化酵素膜の構成に関する。

固定化酵素膜は、酵素を固定化して膜状にしたもので、化学分析装置、特に臨床化学分析装置のセンサー部に用いられて重要な役割を演ずる。例えば、血清中のグルコース濃度の定量を目的とする分析装置においては、酵素としてグルコースを基質とするグルコースオキシダーゼを固定化した酵素膜を使用し、この酵素膜の片側面を一定率の酸素を溶存している試薬液に接触させるとともに、その反対側面に酸素透過膜としての高分子膜を介して酸素電極を当接させ、酵素膜および酸素透過膜を透過してくる上記試薬液中の酸素を検量する

ことにより、試薬液中に注入、拡散させた血清中のグルコースを定量することができる。このとき、上記酵素膜はその触媒作用により血清中のグルコースがグルコン酸に変わる化学反応を起こさせ、また上記酸素電極はグルコースがグルコン酸に変わったときに消費される試薬液中の溶存酸素の減少量を検出するようにそれぞれ機能し、血清中のグルコース量は上記酸素電極が検出する溶存酸素の減少量から逆算することができる。このように、固定化酵素膜は化学分析装置などにきわめて重要な用途を有するものであり、その構造については、例えば分析装置に使用される電極の感應部にポリアミド繊維ネットを被せ、これに酵素を含有させたアクリル酸アミド系単量体を滴下して重合させたもの、あるいは多孔質の膜に酵素を含有させた上記単量体を含浸させて重合したものなどがあつた。しかしながら、前者については、それを一々電極の感應部上にて作成しなければならない煩わしさがあるために実用とはならず、また後者については、それ自体が単独の膜として取り扱われる

ことにより生ずる強度上の問題故に、膜の厚さを薄い方に制御することが非常に困難であるとともに、これを電極に被せて酵素電極を構成する場合は、さらにその間にガス透過性の膜をはさんで保持させねばならず、構造的な複雑さも伴うものであつた。

この発明は以上のような点に鑑みてなされたもので、高分子膜を粗面化し、この粗面化された部分にアクリル酸アミド系単量体を酵素とともに含浸重合させた構成により、十分なる機械的強度を持たせて酵素膜の厚さを薄い方に制御することを可能にするとともに、ガス若しくはイオン透過機能を有する膜と酵素膜とを一体化して、その取り扱いを便ならしめ、また酵素電極を構成した場合は、その構造を簡単にできるような固定化酵素膜を提供することにある。

以下、この発明に係る固定化酵素膜の実施例を図面を参照しながら説明する。第1図①は高分子膜1の粗面化された部分2を示し、また同図②はその粗面化部分2に、アクリル酸アミド系単量体

- 3 -

- 4 -

の如き緩衝液
はリン酸緩衝液あるいは食塩水の如き塩類水溶液などに溶解し、これにアクリル酸アミド系単量体を溶解した後、さらに重合開始剤および重合促進剤を添加して混合液を調製する。次いで、この混合液を上記高分子膜の粗面化された部分に含浸させて窒素ガス中に静置すると、第1図③に示す如き、固定化酵素膜4が得られる。ここで使用されるアクリル酸アミド系単量体とは、分子中にアクリル酸アミド部分を含む重合可能な単量体を意味し、このようなものとしては、例えばアクリル酸アミド、 N,N' -低級アルキレンービス(アクリル酸アミド)、ビス(アクリロイルアミノメチル)エーテルなどがある。また、重合反応に際して用いられる重合開始剤としては、例えば過硫酸アンモニウム、過硫酸カリウムなどがあり、重合促進剤としては、例えば β -(ジメチルアミノ)-ブロピオニトリル、 N,N,N',N' -テトラメチルエチレンジアミンなどがある。このようにして構成されている固定化酵素膜は、その高分子膜の部分が支持体となつて単独での取り扱いに十分に

- 5 -

-446-

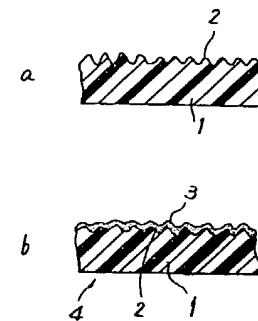
を酵素とともに含浸重合させて酵素部分3を一体的に形成した状態を示す。高分子膜1は、例えばポリエチレン、ポリスチレン、その他の合成若しくは天然性高分子物質を膜状に成型したものであつて、ガス若しくはイオン透過性半透膜あるいは特に低分子量分子だけを選択的に透過させる半透膜としての性質を示すものである。粗面化部分2は、高分子膜1の表面に形成された微密な凹凸あるいは微細な多孔層であつて、サンドブラスト、エンボスなどを用いる機械的処理方法、酵剤や腐蝕剤などの薬品を用いる化学的処理方法、あるいは微粒体をコーティングして粗面を形成するコーティング処理方法などによつて形成される。このようにして形成される粗面化部分2は、実効表面積が著しく拡大されるとともに、その間隙に多量の液状体を包含できるようになつてゐる。この粗面化部2に、酵素とともにアクリル酸アミド系単量体を含浸重合させることは、例えば次のようにして行なうことができる。先ず、酵素液または酵素とこの酵素の保護物質を適当な溶剤、例え

耐え得る機械的強度を持つとともに、その部分がガス若しくはイオン透過能あるいは特に低分子量分子だけを選択的に透過する半透膜としての機能を有しているので、これで酵素電極を構成する場合は、従来のようにさらに別の透過程を介在させる煩わしさがなく、第2図④に示すように、固定化酵素膜4を直接電極5に被せるだけで良くなり、その構造は非常に簡略化される。さらに、酵素部分3の厚さも、それが酵素膜4の強度に影響を与えることがなくなつたので、従来のものよりも大幅に薄くすることも可能になつて、その選択範囲は大幅に広くなつてゐる。

第3図は、この発明に係る固定化酵素膜の高分子膜を部分的に粗面化した場合の実施例を示し、1は高分子膜で、その中央部に粗面化部分2を円形に設けて酵素を固定化してある。このような形状にした理由は、これを酵素電極に被せて酵素電極を構成する場合に、粗面化により膜の周囲が濡れて漏洩電流が増えたりすることを防止するためである。

- 6 -

第1図



以上のようにこの発明による固定化酵素膜は、高分子膜を粗面化し、この粗面化された部分にアクリル酸アミド系单量体を酵素とともに含浸重合させた構成により、十分なる機械的強度を持たせて酵素膜の厚さを薄い方に制御することを可能にしてその選択範囲を広げるとともに、ガス若しくはイオン透過機能を有する膜と酵素膜とを一体化して、その取り扱いを便ならしめ、また酵素電極を構成した場合は、その構造を簡単にできるなどの効果を有する。

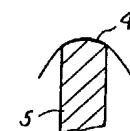
4. 図面の簡単な説明

第1図a, bはこの発明に係る酵素膜の実施例を説明するための部分断面図、第2図は酵素電極に用いる場合示す断面略図、第3図は粗面化部分の実施例を示す平面図である。

- 1 …… 高分子膜、
- 2 …… 粗面化部分、
- 3 …… 酵素部分、
- 4 …… 固定化酵素膜
- 5 …… 酶素電極。

- 7 -

第2図



第3図

